

2000, 19(4) 1-4

第19卷第4期
2000年7月水产科学
FISHERIES SCIENCEVol. 19, No. 4
July, 2000

干扰素防治草鱼出血病的效果初探

①

贾方钧, 王铁辉, 张义兵, 俞小牧, 李戈强

(中国科学院水生生物研究所 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072)

摘 要: 对人工诱导的鲫鱼干扰素防治草鱼出血病的效果进行了初步探讨。结果表明, 人工诱导的鲫鱼干扰素确能有效防治草鱼出血病, 腹腔注射和药浴浸泡两种途径均有一定效果。在病毒感染前使用干扰素处理的效果好于在病毒感染后使用干扰素处理。多次使用干扰素处理的效果好于一次性处理。

关键词: 草鱼出血病; 干扰素; 鱼病 防治 给药途径

中图分类号: S 943.112.411

文献标识码: A

文章编号: 1003-1111(2000)04-0001-04

干扰素是一种广谱的抗病毒因子, 已广泛应用于防治人类及某些高等哺乳动物的病毒性疾病, 并取得了良好效果。草鱼出血病是由一种呼肠孤病毒引起的爆发性传染病, 对草鱼养殖业的危害极大, 目前还没有得到有效控制。本实验室在用紫外线灭活的草鱼出血病病毒诱导高滴度鱼类干扰素的基础上, 开展了用鲫鱼干扰素防治草鱼出血病的探索。

1 材料与方法

1.1 干扰素制剂

用紫外线灭活的草鱼出血病病毒诱导的鲫鱼干扰素^[1], 效价 10 000 单位/mL。

1.2 病毒

本研究组分离保存的 GCHV-861 株。使用时按常规方法制成组织匀浆供感染^[2]。

1.3 草鱼

第一次实验所用的草鱼是一龄鱼种, 第二次、第三次实验所用的草鱼为当年鱼种, 饲养于本所关桥鱼类良种实验基地, 实验期间饲以

浮萍。

1.4 人工感染

用高渗浸泡感染^[3], 将待感染的草鱼用 2 % NaCl 溶液浸泡 15 min 左右, 再将草鱼直接转入病毒液中浸泡 60 min, 用曝气自来水冲洗后, 置于 60 cm × 45 cm × 30 cm 的水箱中饲养, 逐日观察。

1.5 实验过程

1.5.1 腹腔注射干扰素制剂

本次实验所用的草鱼种体长 (68.0 ± 5.0) mm, 平均体重 9.2 g, 饲养水温 23 ~ 27 °C, 人工感染时将已制备好的含有病毒的病鱼组织匀浆按 1:1 000 的比例稀释, 对受试草鱼由腹腔注射干扰素制剂, 剂量为 0.3 mL/尾。

为探讨在感染前后不同时期干扰素的作用效果, 本次实验分别在人工感染病毒的前一天、当天和后一天对三组草鱼使用干扰素处理。感染对照组只予感染病毒, 不进行干扰素处理。空白对照组在感染对照组染毒的同时注射等量 PBS 盐水, 不予感染病毒。

1.5.2 干扰素浸泡处理

收稿日期: 1999-10-08; 修订日期: 2000-04-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870602)

作者简介: 贾方钧 (1966-), 男, 中国科学院水生生物研究所遗传学博士研究生, 主要从事鱼类遗传学研究。

本次实验所用的草鱼种体长 (39.0 ± 4.0) mm, 平均体重 3.2 g, 饲养水温 $27 \sim 30^\circ\text{C}$, 人工感染时将已制备好的含有病毒的病鱼组织匀浆按 1:5 000 稀释, 对受试草鱼以浓度 50 单位/mL 的干扰素制剂稀释液浸泡 1 h。本次试验的目的是为探讨浸泡方式处理的效果。试验开始时四个组的草鱼均为 30 尾, 详细分组情况见图 1 注。

1.5.3 腹腔注射与浸泡处理效果的比较

本次实验所用的草鱼体长 (42.0 ± 5.0) mm, 平均体重 5.0 g, 饲养水温 $28 \sim 32^\circ\text{C}$, 人工感染时将已制备好的含有病毒的病鱼组织匀浆按 1:10 000 稀释, 有两个组的草鱼由腹腔注射干扰素制剂, 注射剂量为 0.2 mL/尾, 另有两个组用浓度为 80 单位/mL 干扰素制剂稀释液浸泡 1 h。本次试验旨在比较不同给药途径的防治效果, 详细分组情况见图 2 注。

2 结果与讨论

2.1 人工感染草鱼出血病病毒的草鱼的发病症状

发病期的病鱼游动缓慢, 无食欲, 体重显著下降, 体表颜色变暗黑或暗红, 无光泽, 鱼体表面及内脏器官呈不同程度充血。典型症状为肌肉充血, 严重者全身肌肉呈鲜红色。一部分病鱼鳃丝斑点状或块状充血。多数病鱼肝、脾、肾充血或肿胀, 肠道充血。发病鱼一天内即死亡。该结果与以前的资料一致^[4,5]。

2.2 鲫鱼干扰素对草鱼出血病的防治效果

2.2.1 腹腔注射干扰素对草鱼出血病的防治效果

本次实验中, 分别在人工感染草鱼出血病病毒的前一天、当天和后一天各对一组受试草鱼注射干扰素制剂, 结果这三个试验组分别有 55 %、44 %、42 % 的草鱼存活下来, 并且在染毒前一天使用干扰素的效果好于在染毒当天及染毒后一天使用干扰素, 而感染对照组的草鱼死亡率达到 100 % (表 1)。这个结果可以说明, 通过腹腔注射鲫鱼干扰素, 作为一种预防措施, 确能有效地降低草鱼出血病的危害; 作为一种治疗手段, 亦可以在草鱼出血病病毒感染的早期, 对草鱼出血病表现出相当的疗效。

表 1 腹腔注射干扰素对草鱼出血病的防治效果

Table 1 The effect of prevention and treatment of interferon against grass carp hemorrhagia by intraperitoneal injection

组 别	6 月 19 日 实验开始 时的草鱼 尾数	人工感染草鱼不同时间存活尾数										保护力 /%
		-19 ~ -22	-23	-24	-25	-26	-27	-28	-29	-30	-07-01 ~ -07-07	
第一组	22	22	21	20	17	17	17	14	13	11	10	55
第二组	25	25	15	12	12	12	11	11	11	11	11	44
第三组	26	26	26	26	25	25	25	22	20	14	11	42
空白对照组	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	—
感染对照组	25	25	15	3	3	3	3	1	1	1	0	0

注: 第一组在染毒前一天注射干扰素, 第二组在染毒当天注射干扰素, 第三组在染毒后一天注射干扰素。感染对照组只予感染病毒, 不进行干扰素处理。空白对照组在感染对照组染毒的同时注射等量 PBS 盐水, 不予感染病毒。试验期间水温 $23 \sim 27^\circ\text{C}$ 。

2.2.2 干扰素浸泡处理防治草鱼出血病的效果

注射方法用于治疗鱼病,存在着劳动强度大,操作不便的局限。探讨注射以外的药物处理方式是一种必然的考虑。在本次试验中,我们采用了浸泡处理的方法,第一组仅在染毒前一天浸泡处理一次,而第二组和第三组分别用逐日连续浸泡和隔日连续浸泡的方式处理,结果第二、第三组的存活率均超过50%,明显好于第一组(图1)。这说明用鲫鱼干扰素浸泡处理防治草鱼出血病时,存在着某种剂量依赖效应,干扰素用量大时其防治效果亦较好。值得注意的是,第二、第三组的草鱼在试验初期的死亡率高出其他组,这是否意味着大剂量干扰素处理对鱼体具有毒副作用尚不能肯定,这也说明还需要在以后的试验中对用干扰素防治草鱼出血病时的剂量效应作详尽的探索。

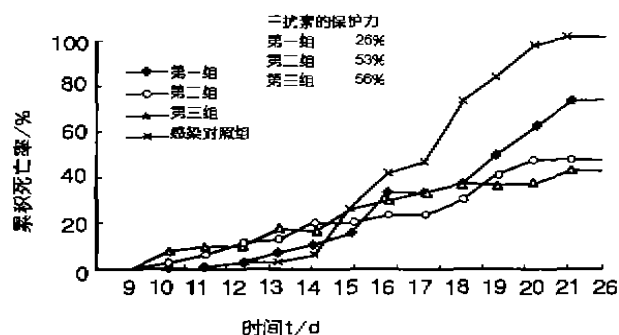


图1 干扰素浸泡处理防止草鱼出血病的效果

Figure 1 The effect of interferon on the prevention and treatment to grass carp hemorrhagia with bathing process

注:第一组在染毒前一天浸泡干扰素,第二组在染毒前一天和染毒后连续三天各浸泡一次,第三组在染毒后隔日连续浸泡三次。试验开始时四个组的草鱼均为30尾,试验期间水温27~29℃。

2.2.3 不同给药途径的效果比较

本次试验试图比较浸泡处理和腹腔注射这两种给药途径的效果。从结果上看,腹腔注射

的效果优于浸泡处理(图2)。在试验中对同样规格、同一数量的试验群体给予同样的用药总量,在本次实验中是对每一组的40尾草鱼总用药量80000单位。但浸泡处理过程中,鱼体实际接受量难以确定,且存在无效损耗。所以,本次试验的结果所反应的两种处理方式的效果差异偏大。

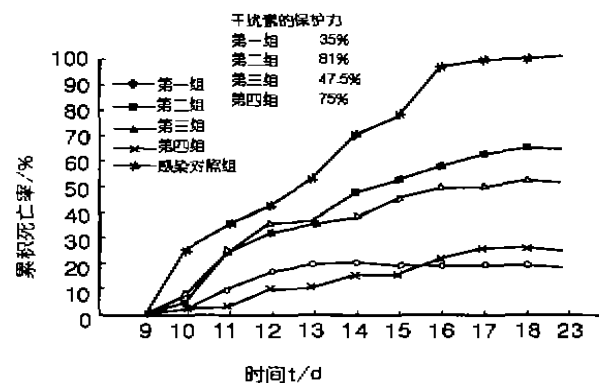


图2 干扰素以不同途径给药防治草鱼出血病的效果比较

Figure 2 The comparison of effect of interferon on the prevention and treatment to grass carp hemorrhagia among different paths

注:第一组在染毒前一天用干扰素浸泡处理一次,第二组在染毒前一天注射干扰素一次,第三组在染毒后一天用干扰素浸泡处理一次,第四组在染毒后一天注射干扰素一次,试验开始时各组均为40尾。试验期间水温28~32℃

干扰素并不能直接灭活病毒,而是通过细胞的基因组产生另一些蛋白质来发挥效能,细胞中直接杀灭病毒的效应因子是在干扰素同细胞膜上的受体结合之后才能渐次表达^[6]。本文的实验中,在病毒感染前用干扰素处理鱼体的抗病效果一般优于在病毒感染同时及感染后用干扰素处理,作者推测其原因在于在病毒感染前的处理能诱使机体处于抗病毒因子活跃表达状态,从而在病毒侵入的初期即能抑制病毒的增殖。在鱼体染毒后连续给药,能够大大提高受试鱼的存活率,甚至可以优于在染毒前处理的效果,这可能是由于连续给药具有维持机体抗病状态的作用。

从总体上看,三个批次的实验采用了不同的病毒感染浓度,感染浓度低时干扰素的保护效果亦见明显。另一方面,本文的实验也表明腹腔注射和药浴浸洗这两种给药途径都有良好的效果,腹腔注射的效果更好,而药浴方式可能更具有实用价值。

由于人工诱导的鲫鱼干扰素数量有限,本文未能对影响干扰素作用效果的诸因子间的关系进行详细的分析。为了今后大规模生产实践的需要,本学科组正在进行用基因工程技术生产鱼类干扰素的研究工作。有关鱼类干扰素作用效果和作用机理的问题也将随之得到细致全面的研究分析。

参考文献:

- [1] 王铁辉,张义兵,李戈强,等.鱼类培养细胞干扰素的诱导[J].病毒学报,1999,15(1):43-49.
- [2] 王铁辉,刘沛霖,陈宏溪,等.稀有鮎鲫对草鱼出血病病毒敏感性的初步研究[J].水生生物学报,1994,18(2):144-149.
- [3] 王铁辉,陈宏溪,刘沛霖,等.草鱼出血病毒高渗透泡感染稀有鮎鲫的研究[C].见彭珍荣编.当代微生物研究进展.武汉:武汉大学出版社,1995.344-349.
- [4] 中国科学院水生生物所三室病毒组.草鱼出血病病原的研究[J].水生生物学集刊,1978,6(3):321-330.
- [5] 毛树坚,邵建忠,杭崎,等.草鱼出血病病原的研究[J].水产学报,1989,13(1):1-4.
- [6] 侯云德.分子病毒学[M].北京:学苑出版社,1990.628-631.

Preliminary Study on Prevention and Treatment to Grass Carp Hemorrhagia with Interferon

JIA Fang-jun, WANG Tie-hui, ZHANG Yi-bing, Yu Xiao-Mu, Li Ge-qiang

(State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: This paper reports the preliminary study on prevention and treatment to grass carp hemorrhagia with artificially induced interferon from crucian carp (*Carassius auratus*). The result shows that the artificially induced interferon from crucian carp demonstrated certain effect of prevention and treatment on grass carp hemorrhagia. Both intraperitoneal injection and bathing process through which the interferon would be absorbed by fish could act as available methods for therapeutic purpose. The interferon would be more helpful if it were applied before the virus had infected the fish than that after infected; and it would appear more effective when interferon was applied repeatedly than that applied only once.

Key words: grass carp hemorrhagia; interferon; fish disease.

《水产科学》1998 年引证报告统计

《期刊引证报告》是一种新型的用于期刊引用分析的重要工具,利用该报告所提供的数据,可以清楚地了解期刊引用和被引用的情况、引用频率、引用网络等,同时,还可以方便地定量评价期刊的相互影响和相互作用,正确评估某种期刊在科学交流体系中的作用和地位。

依据中国科技信息所编制的《1998 年中国科技期刊引证报告(扩刊版)》(2648 种统计源)所统计的数据,《水产科学》影响因子为 0.073,被引频次 79,这说明《水产科学》已被许多水产科研工作者所使用。这将激励我们的工作今后将更上一层楼。

(本刊编辑部)